

Res. 1996. V. 100. P. 923-935.

4. White, T. J., T. Bruns, S. Lee, Taylor J. W. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. 1990. P. 315-322.

## **ПОЛИАДЕНИЛИРОВАНИЕ РНК, СИНТЕЗИРУЕМЫХ РНК-ПОЛИМЕРАЗОЙ III: ТРЕБОВАНИЕ К СТРУКТУРЕ РНК**

**Ю.С. Голубчикова, О.Р. Бородулина, Д.А. Крамеров**

*Институт молекулярной биологии им В.А. Энгельгардта РАН, Москва.*

*E-mail: kramarov@eimb.ru*

РНК-полимераза III транскрибирует гены тРНК, 5S рРНК и некоторых других малых РНК, а также короткие мобильные генетические элементы, сокращенно обозначаемые как SINEs (Short Interspersed Elements). SINEs, или короткие ретропозоны представляют собой рассеянные по геному повторяющиеся последовательности длиной 100-500 пар нуклеотидов, которые транскрибируются РНК-полимеразой III, с образованием небольших по длине РНК. Около трети всех известных семейств коротких ретропозонов млекопитающих описаны в нашей лаборатории. Бородулиной и Крамеровым было обнаружено, что все SINEs можно разделить на два класса: T+ и T- (Borodulina, Kramarov, 2001). SINEs класса T+ в своих А-богатых хвостах содержат гексануклеотид(ы) ААТААА и терминатор транскрипции (TTTT или ТСТТТ). Такие последовательности отсутствуют у SINEs класса T-.

При трансфекции человеческих клеток HeLa мышинным SINE B2, относящимся к классу T+, наблюдалось образование гетерогенной по размеру РНК длиной до 500 нуклеотидов (Borodulina, Kramarov, 2008). В целом ряде опытов было показано, что такая РНК на 3'-конце содержит поли(А)-хвост, обуславливающий гетерогенность B2 РНК по длине. При замене ААТААА на ААСААА в B2 обнаруживался только первичный транскрипт B2 длиной 180 нуклеотидов, который не имел поли(А). Таким образом, на примере B2 SINE было доказано, что РНК, синтезируемая РНК-полимеразой III, способна полиаденилироваться и для этой посттранскрибационной модификации РНК необходимо наличие гексануклеотида AAUAAA на ее 3' конце (Borodulina, Kramarov, 2008). Это было весьма неожиданным открытием, так как до сих пор считалось, что синтез поли(А) происходит при наличии сигнала полиаденилирования (AAUAAA) только у молекул мРНК, которые, как известно, синтезируются РНК-полимеразой II.

В настоящей работе с помощью того же подхода были исследованы другие SINEs млекопитающих. Оказалось, что транскрипты всех SINEs класса T+ (B2, DOG, Rabbit, TAL, ERE-1, DIP, Rhin1), подвергаются AAUAAA-зависимому полиаденилированию. Очевидно, что транскрипты SINEs класса T- не способны к полиаденилированию из-за отсутствия в них

сигнала полиаденилирования. В связи с этим, мы искусственно вводили в их хвостовую часть таких SINEs гексануклеотид AATAAA и терминатор транскрипции TTTT. Интересно, что транскрипты SINEs класса T-, измененные таким образом все равно не были способны к полиаденилированию. По-видимому, для полиаденилирования РНК, транскрибируемой РНК полимеразой III недостаточно наличия сигнала полиаденилирования. Очевидно, в ходе эволюции SINEs класса T+ приобрели какие-то дополнительные структурные особенности, которые необходимы для полиаденилирования их транскриптов. Используя конструкции SINEs B2 и Ere с протяженными делециями, мы обнаружили, что для полиаденилирования важен также небольшой фрагмент, расположенный непосредственно перед хвостовым участком. В других SINEs класса T+ роль такого фрагмента играют полипириимидиновые последовательности.

#### Библиографический список

1. Borodulina O.R., Kramerov D.A. Short Interspersed Elements (SINEs) from Insectivores. Two Classes of Mammalian SINEs Distinguished by A-rich Tail Structure// Mammalian Genome. 2001. № 12. С. 779-786.
2. Borodulina O.R., Kramerov D.A. Transcripts Synthesized by RNA Polymerase III Can Be Polyadenylated in AAUAAA-Dependent Manner // RNA. 2008. № 14. С. 1865-1873.

## СОЗДАНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ К ГЕРБИЦИДУ ГЛИФОСАТУ

**Н.Н. Гущинская, Е.А. Николайчик**

*Белорусский государственный университет, Минск. E-mail: guschinskayann@gmail.com*

Современное интенсивное сельское хозяйство невозможно без широкого применения гербицидов, однако их использование зачастую создает целый ряд экологических проблем, в первую очередь с токсичностью большинства гербицидов для животных (в том числе человека) и последующих посевов сельскохозяйственных культур. N-фосфометилглицин (глифосат) является фактически единственным из широко используемых в настоящее время гербицидов с низкой токсичностью для животных. Популярность глифосата обусловлена также дешевизной его производства и эффективным подавлением роста практически всех видов растений.

Механизм действия глифосата основан на специфическом и эффективном ингибировании 5-енолпирувилшикимат-3-фосфатсинтазы (EPSPS) – ключевого фермента биосинтеза ароматических соединений у бактериальных и растительных организмов. Низкая токсичность глифосата для животных ( $LD_{50}=5,6$  г/кг веса при внутреннем употреблении в